



TITLE:

Deciphering the physiological codes of bone using elemental and isotopic data obtained by ICP-mass spectrometry(Digest_要約)

AUTHOR(S):

Tanaka, Yuuki

CITATION:

Tanaka, Yuuki. Deciphering the physiological codes of bone using elemental and isotopic data obtained by ICP-mass spectrometry. 京都大学, 2017, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2017-11-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20750>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開

博士論文要旨

地球惑星科学専攻
地質学鉱物学教室
宇宙地球化学講座
田中 佑樹

論文題目

Deciphering the physiological codes of bone using elemental and isotopic
data obtained by ICP-mass spectrometry

ICP 質量分析法を用いた元素分析及び同位体分析による骨の生理的情報の解読

要旨

自然界には様々な元素が存在し、それぞれの化学的性質に応じて分配・循環している。Noddack は地質試料には全ての元素が潜在的に含まれるとする存在元素普存説 (the All-Present Theory of Elements) を提唱した (Noddack, 1936)。原口はこの考えを、人間を含む全ての生物について包括した拡張元素普存説 (the All-Element Present Theory) として提唱した (Haraguchi, 1999)。生体内の元素組成は海水中の元素組成と極めてよい一致をするが、有機物・生体組織を構成する水素、炭素、窒素、酸素などは海水と生体内で元素存在度が大きく異なる。特にリンは、海水に比べ生体内で 10^4 倍程度の濃集があり、特異的な元素の一つといえる。リンは生体内で DNA、ATP、リン脂質など有機物の重要構成要素となっており、さらに脊椎動物ではその多くが骨に含まれている。骨はリン以外にもカルシウムやマグネシウムなどの無機元素の貯蔵を行っており、また造血器官としての役割も併せ持つことから原始的な生物が高等な脊椎動物へと進化する過程で獲得した最重要臓器の一つであると言える。ヒトや脊椎動物の骨組織ではハイドロキシアパタイト (HAp) の微結晶が石灰化と溶解を制御することで、体液中の無機元素濃度維持に貢献している。一方、骨の支持組織としての機能に注目すると、HAp の粒子密度や結晶化度などの物性は力学強度に影響する要因であると考えられる。骨中の HAp は生物による無機元素の栄養状態や代謝を反映して物性が変化し、粒子密度はカルシウム (Ca) やリンなど主成分元素の存在量、結晶化度は主成分元素に対する微量元素 (マグネシウム (Mg)、ストロンチウム (Sr) など) の存在量と関連付

けて考えることができる。しかし、元素の栄養状態や代謝の変化と HAp の物性を、元素レベルで評価した研究は少なく、両者の関連については未だ不明な点が多い。骨の形成と溶解（骨吸収）過程の理解は、生物、特に脊椎動物の進化を理解する基盤情報になるとともに、現代の動物に応用することで骨粗鬆症などの新たな骨代謝マーカーとしての活用に応用できるものと期待できる。そこで本研究では、高感度、高精度の元素分析装置である ICP 質量分析計を用いて、骨や血液など生体試料中の元素、同位体分析の手法を開発した。

本研究ではまず、HAp 中の Mg、Sr の Ca に対する存在量が結晶化度に及ぼす影響を評価した。そして、骨での元素代謝に影響が生じることが知られている慢性腎臓病と糖尿病のラットの試料に適用を試みた。レーザーアブレーション ICP 質量分析計を用いて、骨の局所元素濃度を測定し、濃度比 Mg/Ca、Sr/Ca を計算した。慢性腎臓病ラットでは骨中の Mg/Ca、Sr/Ca が正常ラットよりも高くなった。また骨中と血液中の Mg/Ca、Sr/Ca には、それぞれ相関が見られたことから、腎機能の低下が及ぼす元素代謝の影響が骨組織の元素組成にも影響を及ぼすことが明らかになった。また、元素分析と同一の箇所における、HAp の結晶化度を顕微ラマン分光によって測定したスペクトルのピーク半値幅から評価した。結晶化度は Mg/Ca と負の相関を示し、特に慢性腎臓病ラットで低値を示した。HAp 結晶中での Ca と Mg の置換が HAp の結晶化度（結晶構造の均一さ）に影響を及ぼす可能性が示唆された。また走査型電子顕微鏡による組織観察から慢性腎臓病ラットの骨では HAp の結晶サイズが低下していることが明らかになった。このことは、結晶化度の低下に元素の置換だけでなく結晶サイズ低下による結晶歪みの増大が寄与する可能性を示唆している。

次に、HAp の粒子密度の変化を主成分元素である Ca の安定同位体比から評価する手法の開発を試みた。これまで、様々な脊椎動物において骨の Ca 同位体比 ($^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$) は血清の同位体比よりも有意に低い値を持つことが知られている。したがって、骨から HAp の溶解が進むと、血清中の Ca 同位体比は骨の持つ低い同位体比へ近づくようにシフトすると考えられる。慢性腎臓病ラットと糖尿病ラットの血清中の Ca 同位体比を多重検出器型 ICP 質量分析計によって測定した、正常ラットに比べて低値を示した。この結果は、正常ラットに比べて、骨からの HAp の溶解量が相対的に増加していることを示唆している。X 線吸収量によって評価される骨密度（HAp 密度）は同位体比 $^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$ と正の相関を示し、相対的な HAp 溶解の影響を同位体比によって評価できる可能性が示された。また、本研究では測定によって得られた血清、骨及びエサの Ca 同位体比とマスバランスのモデル計算から、HAp の石灰化と溶解に関与する Ca の量比を見積もった。その結果、概ね、どの群も石灰化は溶解を上回り、骨が成長の段階に

ある一方、同じ週齢にも関わらず、特に糖尿病ラットでは石灰化と溶解がほぼ均衡するところまで HAp の溶解が亢進していることが明らかになった。糖尿病による Ca 代謝の変化は、骨における HAp 溶解を高め、血清中の Ca 同位体比を変動させることが明らかになった。

骨中の HAp の粒子密度や結晶化度といった物性は、代謝性骨疾患（慢性腎臓病、糖尿病）による元素代謝を通じて変化することが明らかになった。慢性腎臓病では血清中の Mg/Ca による結晶化度の変化、糖尿病では血清中の Ca 同位体比 ($^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$) による粒子密度（骨密度）の変化を評価できる可能性が示された。本研究の結果は骨の力学的な物性を評価する上で、ICP 質量分析計による元素、同位体分析の技術が適用できる可能性を示した。

これらの研究を通じ、元素レベルでのハイドロキシアパタイトの物性に関する基礎的な知見を引き出すことに成功した。これらの研究により、骨の力学強度に対して新たな制約条件を付すことができた。この研究を拡張することで、質的变化が要因となる骨折の病態研究や、さらに新たな骨代謝マーカーとしての利用が期待される。